


beta -(1->6) Bonded oligosaccharides, in particular 2-acetamido-2-deoxy-glucoses or -galactoses and their preparation

No. Publication (Sec.) : FR2640628
Date de publication : 1990-06-22
Inventeur : DEFAYE JACQUES; GADELLE ANDREE; PEDERSEN CHRISTIAN
Déposant : COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE [FR];, CENTRE NAT RECH SCIENT [FR]
Numéro original : ☐ FR2640628
No. d'enregistrement : FR19880016648 19881216
No. de priorité : FR19880016648 19881216
Classification IPC : A61K31/70; A61K31/73; C07H13/02; C07H19/04; C08B37/00
Classification EC : C07H13/04C, C08B37/00M3B
Brevets correspondants :

Abrégé



The invention relates to new (1->6) bonded oligosaccharides:  in which x is an integer ranging from 3 to 6, R<1> and R<2>, which are different, represent H or OH and R<3> is an amido or imido radical. These oligosaccharides may be prepared by dissolving the corresponding 2-acylamido- alpha -deoxy-hexose in hydrofluoric acid followed by a slow evaporation of the solution.

Données fournies par la base d'esp@cenet - l2

THIS PAGE BLANK 104

10 REPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS
11 N° de publication : 2 640 628
12 N° d'enregistrement national : 88 16648

13 Int. Cl. : C07H 13/02, 18/04; C08B 37/00; A61K 31/70, 31/73.

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION A1

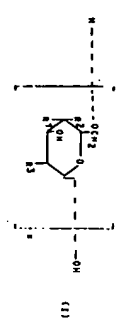
22 Date de dépôt : 16 décembre 1988.
23 Priorité :
24 Demandeur : COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE, Etablissement de Recherches Scientifiques, 91190 Sevran, CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE - FR.

25 Inventeur(s) : Jacques Delays; André Gadelle; Christian Pedersen.
26 Titulaire(s) :
27 Mandataire(s) : Brevetoma.

28 Date de la mise à disposition du public de la demande : BOP, Brevets n° 25 du 22 juin 1990.
29 Références à d'autres documents nationaux approuvés :
30

31 Oligosaccharides liés β -(1 \rightarrow 6) en particulier des 2-acétamido-2-désoxy-glucoses ou - galactoses et leur préparation.

32 L'invention concerne de nouveaux oligosaccharides liés β -(1 \rightarrow 6) de formule :



33 dans laquelle X est un nombre entier allant de 3 à 6, R' et R'' qui sont différents, représentent H ou OH et R' est un radical endo ou exo.
34 Ces oligosaccharides peuvent être préparés par dissolution du 2-acétamido-2-désoxy-glucose correspondant dans de l'eau, puis par évaporation lente de la solution.

2640628

Oligosaccharides liés β -(1 \rightarrow 6) en particulier des 2-acétamido-2-désoxy-glucoses ou - galactoses, et leur préparation

5 La présente invention concerne de nouveaux oligosaccharides, liés β -(1 \rightarrow 6), en particulier les oligosaccharides dérivés du 2-acétamido-2-désoxy-D-glucose et du 2-acétamido-2-désoxy-D-galactose, ainsi qu'un procédé pour la préparation d'oligosaccharides de 2-acétamido-2-désoxy-hexoses liés β -(1 \rightarrow 6) à partir des 2-acétamido-2-désoxy-hexoses correspondants ou à partir de polysaccharides naturels comportant ces unités liées par des ponts β -(1 \rightarrow 6) glycosidiques, comme la chitine.

10 Ces oligosaccharides d'acétamido-hexoses liés β -(1 \rightarrow 6) ou leurs dérivés peuvent trouver des applications dans le domaine des immunostimulants. En effet, on sait que le lipide A qui est un composant de liposaccharides de bactéries gram négatives et qui comporte un motif disaccharidique 2-acétamido-2-désoxy-D-glucopyranose (lié β -(1 \rightarrow 6) à des propriétés immunostimulantes.

15 Les oligosaccharides d'acétamido-hexoses liés β -(1 \rightarrow 6) de l'invention peuvent aussi trouver d'autres applications, par exemple comme synthons, agents hémostatiques, agents anti-tumoraux ou agents chélateurs.

20 Les procédés connus actuellement pour préparer des oligosaccharides liés β -(1 \rightarrow 6) ont permis uniquement de préparer les structures disaccharidiques du 2-acétamido-2-désoxy-D-glucopyranose et du 2-acétamido-2-désoxy-D-galactopyranose.

25 Dans le cas des oligosaccharides dérivés du glucose, la structure disaccharidique peut être

2

obtenue, soit par réaction du 2-acétamido-2-désoxy- α -D-glucose en présence de vapeurs de chlorure d'hydrogène, ce qui conduit à un mélange anonique, comme il est décrit par Foster et al dans J. Chem. Soc. (1958), p. 1890-94, soit par une suite de réactions en plusieurs étapes impliquant une condensation de type Koenigs-Knorr, comme il est décrit par Escoffier et al dans Tetrahedron Lett., 50, (1972), p. 5065-5068 et par Bunelle et al dans Carbohydr. Res., 21, (1972), p. 211-217.

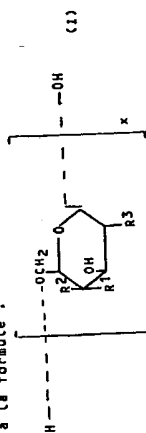
Res., 21, 1972), p. 245.

Dans le cas des oligosaccharides dérivés du galactose, le disaccharide a pu être préparé en utilisant un procédé de condensation comme il est décrit par King et al dans Can. J. Chem., 53, (1975), p. 1970-72.

Ces procédés qui sont pour la plupart, difficiles à mettre en oeuvre ne conduisent pas à un rendement satisfaisant et ne permettent pas de produire et dissoler les oligosaccharides homologues supérieurs recherchés, ayant un d.p. supérieur à 2.

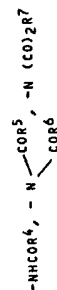
La présente invention a précisément pour objet des oligosaccharides liés 8-(1→6) dérivés de 2-acétylamido-2-désoxy-hexose ou 2-acétylamido-2-désoxy-hexose, qui peuvent être préparés par des procédés plus faciles à mettre en oeuvre, avec de bons rendements, en donnant la possibilité d'obtenir les différents oligosaccharides produits.



Les oligosaccharides liés β -(1 \rightarrow 6) répondent à la formule :



3

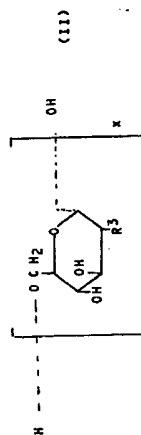
dans laquelle x est un nombre entier allant de 3 à 6, r_1 et r_2 qui sont différents, représentent H ou OH , et R^3 est un radical choisi parmi les radicaux de formules :



dans lesquelles R' représente un atome d'hydrogène, un radical hydrocarboné, saturé ou insaturé, substitué ou non substitué, ou un radical aryle substitué ou non substitué, R⁵ et R⁶ qui peuvent être identiques ou différents représentent un atome d'hydrogène, un radical hydrocarboné, saturé ou insaturé, substitué ou non substitué, ou un radical aryle substitué ou non substitué, et R⁷ représente un radical bivalent choisi parmi -(CH₂)_n- et  et  et les entiers de 2 à 10.

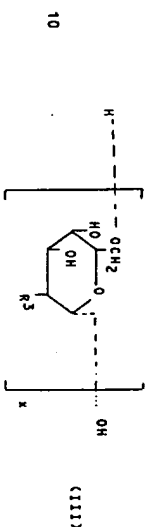
L'invention concerne également les énantiomères de la série L des oligosaccharides de formule (1).

(1). Selon un premier mode de réalisation de l'invention, il s'agit d'oligosaccharides du 2-scytanido-2-désoxy-D-glucopyranose liés β -(1 \rightarrow 6) répondant à la formule :



dans laquelle x est un nombre entier de 3 à 6, et p^3 la signification donnée ci-dessus, ainsi que leurs énantionômes de la série L.

Selon un second mode de réalisation de l'invention, il s'agit d'oligosaccharides du 2-acetylamido-2-désoxy-D-galactopyranose liés β -(1 \rightarrow 6) répondant à la formule :



15 dans laquelle x est un nombre entier de 3 à 6 et R5 a la signification donnée ci-dessus, ainsi que leurs énantiomères de la série L.

20 Dans les oligosaccharides de l'invention, les radicaux R4, R5 et R6 peuvent représenter un atome d'hydrogène ou un radical hydrocarboné saturé ou insaturé, linéaire ou ramifié, substitué ou non substitué, ayant par exemple de 1 à 16 atomes de carbone, de préférence de 1 à 10 atomes de carbone. A titre d'exemple de tels radicaux hydrocarbonés, on peut citer les radicaux alkyle comme le radical méthyle.

25 Selon l'invention, R4, R5 et R6 peuvent aussi représenter un radical aryle substitué ou non substitué, par exemple un radical phényle ou naphthyle.

30 Les substituents des radicaux hydrocarbonés ou des radicaux aryle utilisés pour R4, R5 ou R6 peuvent être de différents types. A titre d'exemples de ces substituents, on peut citer les atomes d'halogène et les radicaux alcoxy de 1 à 4 atomes de carbone.

Selon l'invention, R3 peut être un radical amido ou imido.

A titre d'exemple, R3 peut représenter $\text{HNHCOC}_6\text{H}_5$, ou le radical amido de l'acide benzoïque ou méthoxy benzoïque.

De façon plus générale, on a noté que tout dérivé de la fonction amine susceptible de conduire à la formation d'ions glycosyloxazolium pouvait être utilisé pour R3, en particulier le radical phélimido.

10 Les oligosaccharides de l'invention peuvent être préparés facilement à partir du 2-acetylamido-2-désoxy-hexose correspondant.

Aussi, l'invention a également pour objet un procédé de préparation d'oligosaccharides d'un 2-acetylamido-2-désoxy-hexose liés β -(1 \rightarrow 6), qui consiste à préparer une solution d'un 2-acetylamido-2-désoxy-hexose de formule :



25 dans laquelle R1, R2 et R3 ont la signification donnée ci-dessus, ou de son énantiomère de la série L, dans du fluorure d'hydrogène de façon à former des ions glycosyl oxazolium, et à évaporer ensuite lentement la solution.

30 Selon l'invention, le 2-acetylamido-2-désoxy-hexose peut être en particulier le 2-acetylamido-2-désoxy-D-glucose ou le 2-acetylamido-2-désoxy-D-galactose, par exemple le 2-acétylamido-2-désoxy-D-glucose ou le 2-acétylamido-2-désoxy-D-galactose.

35 Dans ce procédé, il semble que les ions

oxazolinium formés dans la solution soient l'entité réactive. Ainsi, ils permettent la réalisation de réactions de substitution intermoléculaires, extrêmement sélectives par l'hydroxyle en position 6 d'autres unités hexapyranosidiques, lors de l'évaporation lente du fluorure d'hydrogène où la concentration du milieu devient propice à ce type d'autocondensation.

Dans ce cas, lorsque le radical acyle est un radical acétyle, on peut préparer les oligosaccharides du 2-acétamido-2-désoxy-D-glucopyranose liés β -(1 \rightarrow 6) en préparant la solution de 2-acétamido-2-désoxy-D-glucose par réaction de la chitine avec du fluorure d'hydrogène pendant une durée suffisante pour que la solution obtenue ne contienne que les fragments monosaccharidiques provenant de la dégradation de la chitine. On soumet ensuite cette solution à une évaporation lente pour obtenir les oligosaccharides recherchés.

On savait par Bosso et al dans Carbohydr. Res., 156, (1986), p. 57-68, que la fluorolyse de la chitine dans du fluorure d'hydrogène anhydre conduisait aux oligosaccharides liés β -(1 \rightarrow 4) du 2-acétamido-2-désoxy-D-glucopyranose avec un bon rendement. Ainsi, pour des durées allant jusqu'à 24h, à 20°C la chitine était dégradée en donnant plusieurs types d'ion oxazolinium. Après 24h à 20°C, la chitine était complètement dégradée et l'on ne trouvait plus en solution qu'un seul type d'ion oxazolinium. Cependant, selon cet article, en soumettant ensuite les produits à une hydrolyse, on obtenait les oligosaccharides liés β -(1 \rightarrow 4) correspondants ou l'unité monosaccharidique, soit

Le 2-acétamido-2-désoxy-D glucose.

En revanche, dans le procédé de l'invention, on provoque une réaction de substitution intermoléculaire entre les unités monosaccharidiques par évaporation lente du fluorure d'hydrogène pour former les oligosaccharides liés β -(1 \rightarrow 6) correspondants.

Les réactions qui se produisent dans le procédé de l'invention sont représentées sur la figure annexée qui illustre la préparation d'oligosaccharides liés β -(1 \rightarrow 6) à partir de la chitine.

Sur cette figure, on voit que la chitine de formule (IV) se dégrade, par dissolution dans le fluorure d'hydrogène anhydre à 20°C, pour former des fluorures d'oligosaccharides liés β -(1 \rightarrow 4) de formule (V) et (VI) si la durée n'excède pas 8h. Après 8h de maintien dans le fluorure d'hydrogène à 20°C, on obtient uniquement le fragment monosaccharidique de formule (VII) sous la forme de l'ion furanosyl oxazolinium. Cet ion se transforme par autocondensation, lors de l'évaporation de l'acide fluorhydrique, en l'oligosaccharide lié β -(1 \rightarrow 6) de formule (II).

Ainsi, selon l'invention, lorsqu'on part de la chitine, on laisse la réaction de fluorolyse se poursuivre pendant une durée suffisante pour que seul le fragment monosaccharidique correspondant puisse être détecté dans le milieu réactionnel, par exemple par la technique de résonance magnétique nucléaire du ^{13}C , les caractéristiques de ce fragment monosaccharidique sous la forme de cation glycosyl oxazolinium étant les suivantes :

(éppm, $13,6\text{ CH}_3\text{C}^+$, $80,6\text{ C-4}$, $114,0\text{ C-1}$).

Cette durée est généralement de 8 à 10h.

Lorsqu'on met en oeuvre le procédé de l'invention on partant d'un 2-acylamido-2-désoxy-hexose, on réalise la dissolution dans du fluorure d'hydrogène à 0°C et on agite la solution jusqu'à dissolution tout en le laissant revenir à la température ambiante. Dans ce cas, il n'est pas nécessaire d'attendre pour former les ions oxazolium et on peut réaliser immédiatement l'évaporation lente du fluorure d'hydrogène, en plaçant par exemple le récipient contenant la solution sous une bonne hotte pour concentrer la solution par évaporation du fluorure d'hydrogène. Cette évaporation est habituellement obtenue en 10 à 15h environ.

On dissout alors le résidu visqueux dans de l'eau, puis on neutralise la solution aqueuse, par exemple par addition de carbonate de calcium pulvérulent. Après filtration, on lyophilise la solution et on utilise le résidu pulvérulent comme produit de départ pour la séparation des différents oligosaccharides par chromatographie.

Cette séparation peut être réalisée par chromatographie d'exclusion de gel en utilisant par exemple le Bio-Gel P-4 avec l'acétate d'ammonium comme éluant; dans le cas où les oligosaccharides sont produits à partir de la chitine, on effectue une première séparation chromatographique avec l'acétate d'ammonium comme éluant puis une seconde purification sur le même gel avec l'eau éluant.

Dans le cas où les oligosaccharides sont obtenus à partir d'une solution de 2-acylamido-2-désoxy-hexose, on peut réaliser une seule séparation chromatographique sur le Bio-Gel P-4 en utilisant uniquement l'eau comme éluant.

Selon l'invention, on peut également

utiliser pour la préparation d'oligosaccharides liés 8-(1→6) de 2-acylamido-2-désoxyhexoses différents d'un 2-acylamido-2-désoxy-glucose, des polysaccharides comportant le motif répétitif voulu en opérant dans des conditions sensiblement analogues à celles utilisées lorsqu'on part de la chitine. Dans ce cas, la solution est généralement maintenue à la température ambiante en vase clos, pendant 8 à 10h, de façon à permettre la fluorolyse complète des liaisons interosidiques préexistantes dans le polysaccharide.

Après cette réaction, on évapore lentement le fluorure d'hydrogène et on peut séparer les oligosaccharides par chromatographie d'exclusion de gel comme précédemment. Pour tenir compte d'impuretés éventuellement présentes provenant du produit de départ, il est préférable d'effectuer une séparation chromatographique en deux temps en utilisant successivement l'acétate d'ammonium, puis l'eau comme éluants.

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention apparaitront mieux à la lecture des exemples suivants donnés bien entendu à titre illustratif et non limitatif.

Exemple 1 : Préparation d'oligosaccharides liés 8-(1→6) du 2-acylamido-2-désoxy-D-glucopyranose.

On dissout 5g de 2-acylamido-2-désoxy-D-glucose dans 10ml de fluorure d'hydrogène anhydre à 0°C et on agite la solution à 20°C dans un récipient ouvert. Après 15h d'agitation, on obtient un résidu pâteux que l'on dissout dans 10ml d'eau, contenant une quantité de carbonate de calcium pulvérulent suffisante pour neutraliser l'acidité résiduelle. Après filtration, on lyophilise la solution ce qui permet

d'obtenir 5g d'un mélange d'oligosaccharides bruts.

On sépare alors ce mélange par chromatographie d'exclusion de gel de la façon suivante :

L'appareillage est constitué d'une pompe à débit contrôlé Milton-Roy (minipompe A, 350 bars ; bosapro, Pont St Pierre, France) réglée à un débit de 110ml/h, commutée à 2 colonnes de verre 5x100cm (K50/100, Pharmacia, Uppsala) remplies de Bio-Gel P-4 (200-400mesh ; Pharmacia). On assure la détection des produits en sortie de colonne par un réfractomètre (Waters, modèle R 401) monté en série. On dissout chaque échantillon de 1g dans 5ml d'eau et on l'introduit au sommet de la colonne par l'intermédiaire d'une boucle d'injection (Rhéodyne, Cotati, CA ; modèle 7010). On collecte automatiquement les fractions issues de la colonne toutes les 10min, et on réunit celles qui ont un volume hydrodynamique similaire, puis on les concentre et on les sèche par lyophilisation.

On réalise un seul cycle d'élution par l'eau.

On obtient ainsi 5 fractions d'oligosaccharides ayant un dp de 2 à 6. On détermine les caractéristiques de chaque fraction. Les résultats obtenus ainsi que les rendements en oligosaccharides sont donnés dans le tableau 1 annexé.

Les résultats de spectrométrie RMN du ¹³C dans l'oxyde de deutérium utilisant le 1,4-dioxane (δ 67,4) comme standard sont données dans le tableau 2.

Exemple 2 : Préparation d'oligosaccharides liés α-(1→6) du 2-acétamido-2-désoxy-D-glucopyranose.

Dans cet exemple, on part de la chitine. Dans ce but, on ajoute 10g de chitine à 50ml de

fluorure d'hydrogène anhydre à une température de 0°C, puis on agite la suspension pendant 10min jusqu'à dissolution tout en laissant la température remonter à la température ambiante. On abandonne alors la solution claire obtenue pendant 8 à 10h à la température ambiante dans un récipient fermé. On ouvre ensuite le récipient en le disposant sous une hotte de façon à permettre l'évaporation du fluorure d'hydrogène. Après 15h, on obtient un résidu pâteux que l'on dissout dans 20ml d'eau, puis on ajoute à la solution du carbonate de calcium pulvérulent jusqu'à réaction neutre.

On filtre alors la solution, puis on lyophilise, et l'on obtient ainsi 12g d'un mélange brut d'oligosaccharides.

On sépare alors ce mélange par chromatographie.

La séparation chromatographique est réalisée dans les mêmes conditions que celles de l'exemple 1, sauf que l'on réalise deux cycles de séparation. Tout d'abord le mélange est fractionné en utilisant de l'acétate d'ammonium aqueux 50mM amené à pH 4,5 par de l'acide acétique, comme éluant. On soumet ensuite les fractions récupérées à une chromatographie sur la même colonne en utilisant l'eau comme éluant. Les caractéristiques et les rendements en oligosaccharides, obtenus dans ces conditions sont sensiblement les mêmes que ceux obtenus dans l'exemple 1 et figurant dans les tableaux 1 et 2.

Exemple 3 : Préparation d'oligosaccharides liés α-(1→6) du 2-acétamido-2-désoxy-D-galactopyranose.

Dans cet exemple, on suit le même mode opératoire que dans l'exemple 1, sauf que l'on utilise 5g de 2-acétamido-2-désoxy-D-galactose

2640628

12

au lieu de 5g de 2-acétamido-2-désoxy-D-glucose. Les caractéristiques et les rendements en oligosaccharides sont donnés dans le tableau 3 annexé.

Le tableau 4 illustre les résultats obtenus lors de l'analyse par résonance magnétique nucléaire du ^{13}C des oligosaccharides séparés ayant des dp de 2, 3, 4. Ces mesures ont été effectuées en prenant comme étalon le 1,4-dioxane (δ 67,4).

Dans les exemples, on a utilisé des oses et polyosides de la série D mais il va de soi que les oses et les polyosides de la série L sont utilisables de la même façon et conduisent aux dérivés correspondants (oligosaccharides de la série L).

TABLEAU 1

Oligosaccharide	Rendement (X)	Point de fusion (°C)	$[\alpha]_D^{25}$ (°)	m/z [M+H] ⁺	Analyse élémentaire					
					Calculée			Trouvée		
					C	H	N	C	H	N
x=2	30	163(dec.)	+0,7(4,55)	425	pour $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_{11}$ 45,28 6,64 6,60					
x=3	15	191-193(dec.)	-4,0(1,57)	628	pour $\text{C}_{24}\text{H}_{41}\text{N}_3\text{O}_{16}$ 45,93 6,57 6,69					
x=4	6,6	195-197(dec.)	-7,4(1,62)	831	pour $\text{C}_{32}\text{H}_{54}\text{N}_4\text{O}_{21}$ 46,26 6,54 6,74					
x=5	2	203-206(dec.)	-14,0(0,89)	1034	pour $\text{C}_{40}\text{H}_{67}\text{N}_5\text{O}_{26}$ 46,46 6,52 6,77					
x=6	1,3	205-207(dec.)	-20,0(0,72)	1237	pour $\text{C}_{48}\text{H}_{79}\text{N}_6\text{O}_{31}$ 46,63 6,51 6,79					

13

2640628

TABLEAU 4

Oligosaccharide	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
n=2	91,89 (α)	51,11 (α)	68,08 (α)	69,34 (α)	69,88 (α)	69,88 (α)
	96,20 (β)	54,60 (β)	71,80 (β)	68,63 (β)	74,67 (β)	69,80 (β)
	102,90 (2) ^a	53,22 (2) ^a	71,80 (2) ^a	68,63 (2) ^a	75,96 (2) ^a	61,83 (2) ^a
	103,01 (2)					
n=3	91,89 (α)	51,11 (α)	68,09 (α)	69,34 (α)	69,82 (α)	69,82 (α)
	96,25 (β)	54,61 (β)	71,78 (β)	68,65 (β)	74,64 (β)	69,82 (β)
	102,77 (2c)	53,21 (2c)	71,78 (2c)	68,65 (2c)	75,96 (2c)	69,82 (2) ^a
						61,86 (3) ^a
n=4	91,89 (α)	51,12 (α)	68,09 (α)	69,34 (α)	69,71 (α)	69,82 (α)
	96,25 (β)	54,61 (β)	71,79 (β)	68,65 (β)	74,40 (β)	69,82 (β)
	102,83 (3c)	53,22 (2c)	71,79 (2c)	68,64 (3c)	75,97 (3c)	69,71 (3c)
		53,15 (1c)	71,64 (1c)			61,86 (4) ^a

(^a) Les nombres entre parenthèses caractérisent l'unité 2-acétamido-2-désoxy-D-galactopyranosyle, numérotée à partir de l'extrémité réductrice à laquelle appartiennent les carbones considérés.

16

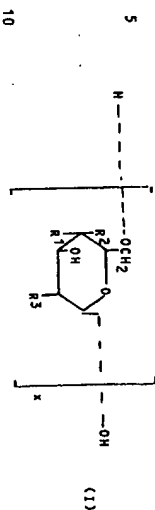
2640628

17

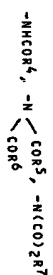
2640628

REPERCUSSIONS

1. Oligosaccharides liés β-(1→6) répondant à la formule :

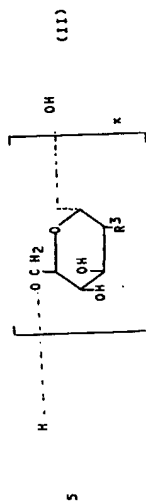


dans laquelle x est un nombre entier allant de 3 à 6, R1 et R2 qui sont différents, représentent H ou OH, et R3 est choisi parmi les radicaux de formule :



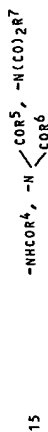
20 dans lesquelles R4 représente un atome d'hydrogène, un radical hydrocarboné, saturé ou insaturé, substitué ou non substitué, ou un radical aryle substitué ou non substitué, R5 et R6 qui peuvent être identiques ou différents, représentent un atome d'hydrogène, un radical hydrocarboné, saturé ou insaturé, substitué ou non substitué ou un radical aryle substitué ou non substitué, et R7 représente un radical bivalent choisi parmi $-(\text{CH}_2)_n^-$ et C_6H_4 avec n étant un nombre entier de 2 à 10, et leurs énantiomères de la série L.

2. Oligosaccharides du 2-acylamido-2-désoxy-D-glucopyranose liés β-(1→6) répondant à la formule :



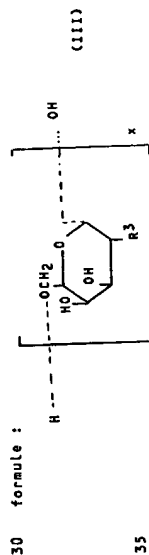
10

dans laquelle x est un nombre entier de 3 à 6, et R³ est choisi parmi les radicaux de formule :



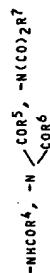
dans lesquelles R⁴ représente un atome d'hydrogène, un radical hydrocarboné, saturé ou insaturé, substitué ou non substitué, ou un radical aryle substitué ou non substitué, R⁵ et R⁶ qui peuvent être identiques ou différents, représentent un atome d'hydrogène, un radical hydrocarboné, saturé ou insaturé, substitué ou non substitué, ou un radical aryle substitué ou non substitué, et R⁷ représente un radical bivalent choisi parmi $-(CH_2)_n-$ et C_6H_4 avec n étant un nombre entier de 2 à 10, et leurs énantiomères de la série L.

3. Oligosaccharides du 2-acylamido-2-désoxy-D-galactopyranose (liés β -(1 \rightarrow 6) répondant à la formule :



35

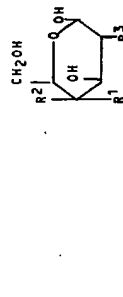
dans laquelle x est un nombre entier de 3 à 6 et R³ est choisi parmi les radicaux de formule :



dans lesquelles R⁴ représente un atome d'hydrogène, un radical hydrocarboné, saturé ou insaturé, substitué ou non substitué, ou un radical aryle substitué ou non substitué, R⁵ et R⁶ qui peuvent être identiques ou différents, représentent un atome d'hydrogène, un radical hydrocarboné, saturé ou insaturé, substitué ou non substitué, et R⁷ représente un radical bivalent choisi parmi $-(CH_2)_n-$ et C_6H_4 avec n étant un nombre entier de 2 à 10, et leurs énantiomères de la série L.

4. Oligosaccharides selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisés en ce que R³ est le radical $HNCOCH_3$.

5. Procédé de préparation d'oligosaccharides d'un 2-acylamido-2-désoxy-hexose liés β -(1 \rightarrow 6), caractérisé en ce qu'il consiste à préparer une solution d'un 2-acylamido-2-désoxy-hexose de formule :



35

2640628

20

dans laquelle R¹ et R² qui sont différents, représentent H ou OH, et R³ est choisi parmi les radicaux de formule :



10 dans lesquelles R⁴ représente un atome d'hydrogène, un radical hydrocarboné, saturé ou insaturé, substitué ou non substitué, ou un radical aryle substitué ou non substitué, R⁵ et R⁶ qui peuvent être identiques ou différents représentent un atome d'hydrogène, un radical hydrocarboné, saturé ou insaturé, substitué ou non substitué ou un radical aryle substitué ou non substitué, et R⁷ représente un radical bivalent choisi parmi $-(\text{CH}_2)_n-$ et C_6H_4- et avec n étant un nombre entier de 2 à 10, ou de son énantiomère de la série L, dans du fluorure d'hydrogène de façon à former des ions glycosylazolinium, et à évaporer ensuite lentement la solution.

20 6. Procédé selon la revendication 5, caractérisé en ce que l'hexose est le glucose.

7. Procédé selon la revendication 5, caractérisé en ce que l'hexose est le galactose.

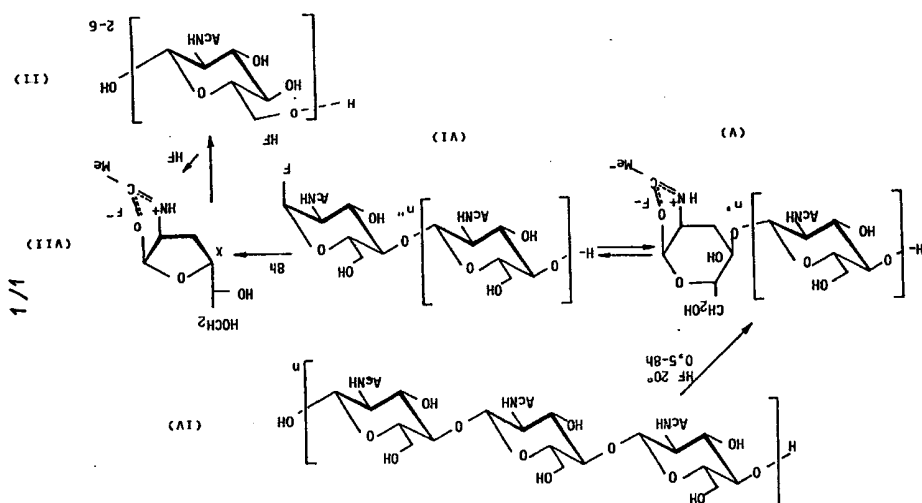
25 8. Procédé selon la revendication 5 de préparation d'oligosaccharides de 2-acétamido-2-désoxy-D-glucopyranose liés β -(1 \rightarrow 6), caractérisé en ce que l'on prépare la solution de 2-acétamido-2-désoxy-D-glucose par réaction de la chitine avec du fluorure d'hydrogène pendant une durée suffisante pour que la solution obtenue ne contienne que les fragments monosaccharidiques provenant de la dégradation de la chitine.

2640628

21

9. Procédé selon la revendication 7 de préparation d'oligosaccharides du 2-acétamido-2-désoxy-D-galactopyranose liés β -(1 \rightarrow 6), caractérisé en ce qu'il consiste à préparer une solution du 2-acétamido-2-désoxy-D-galactose dans du fluorure d'hydrogène et à évaporer ensuite lentement la solution.

2640628



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

THIS PAGE BLANK (USPTO)